

# 微波合成大豆蛋白-糖接枝物理化性质的研究

管军军<sup>1,2</sup>, 白新鹏<sup>2</sup>, 方希修<sup>2,3</sup>, 裘爱泳<sup>2</sup>, 刘晓亚<sup>4</sup>

(1. 河南工业大学生物工程学院, 河南 郑州 450052 2. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036

3. 江苏畜牧兽医职业技术学院营养与生物技术研究室, 江苏 泰州 225300

4. 江南大学化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214036)

**摘 要:** 采用微波合成 SPI-糖接枝物, 并对其纯化, 分析结果表明: SPI-乳糖接枝物相对分子质量(RMW)相对于 SPI 变化不大, 而 SPI-SS 接枝物未监测到 > 440K 组分 1; 而且, 接枝物中总糖的含量明显提高, 赖氨酸、精氨酸减少, 特性黏度出现不同程度的增加, 而热变性峰值温度则有所降低。另外, 通过荧光分析证明, SPI 及其接枝物分别在 450nm 与 430nm 处有最大荧光强度, 该波长的变化符合美拉德反应产物的荧光特征。

**关键词:** 微波; 大豆蛋白-糖接枝物; 理化性质

## Physico-chemical Characteristics of Soy Protein-Saccharide Grafts Synthesized by Microwave

GUAN Jun-jun<sup>1,2</sup>, BAI Xin-peng<sup>2</sup>, FANG Xi-xiu<sup>2,3</sup>, QIU Ai-yong<sup>2</sup>, LIU Xiao-ya<sup>4</sup>

(1. College of Bioengineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450052, China

2. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036 China

3. Research Laboratory of Nutrition and Biotechnology, Jiangsu Animal Husbandry and Veterinary College, Taizhou 225300,

China 4. School of Chemical and Material Engineering, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

**Abstract:** SPI (soy protein isolate)-saccharide grafts were synthesized by microwave radiation and then purified. The analytic results showed that the relative molecular weight (RMW) of the SPI-lactose graft was not changed by gel chromatography in Sepharose CL-6B, and the composition 1 (RMW>440k) could not be detected in the SPI-SS (soy protein isolate-soluble starch) graft; whereas the total content of saccharides grew obviously, and its intrinsic viscosity was also enhanced, but both the heat-denaturalization temperature, and the lysine and arginine contents decreased. In addition, by the fluorescence analysis, the maximal fluorescence intensity (FI) of SPI was at 450nm, however, that of grafts was at 430nm, so the change is accordance with the fluorescent characteristic of the Maillard-type products.

**Key words** microwave soy protein-saccharide graft; physico-chemical characteristics

中图分类号: TQ936.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)06-0030-06

蛋白质-糖接枝反应<sup>[1-6]</sup>是基于蛋白质分子中氨基酸侧链的自由氨基和糖分子还原末端的羰基之间的羰氨反应——美拉德反应(Maillard reaction),该反应中蛋白质与糖以共价结合,不需要催化剂,仅加热就可使该反应自发地进行,经接枝改性的蛋白质功能性(如水溶性,乳化性,热稳定性等)有很大的改善,是目前蛋白改性中较为理想的方法

对于美拉德反应,美国化学家 Hodge<sup>[7]</sup>于 1952 年首先对该反应机理作了系统的论述,认为美拉德反应可以

分成三个反应阶段:初级阶段(羰氨加成反应),高级阶段(成环、脱水、重排、异构化等)及最终反应阶段(生成类黑素)。影响美拉德反应的因素有 pH 值、温度、反应时间、离子强度等。

从目前所报道的文献来看,蛋白质与还原糖通过美拉德反应进行接枝改性的方法主要有干法<sup>[1-3]</sup>与湿法<sup>[4-6]</sup>两种。但是这两种方法的反应时间较长,特别是干法反应,少则数小时,多则几天甚至几周,不利于应用。因此,加速蛋白质与糖的接枝反应,缩短反应时间,

收稿日期: 2006-07-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20374025); 河南工业大学引进人才专项基金(150220)

作者简介: 管军军(1975-),男,副教授,博士,主要从事植物蛋白资源的研究与开发。

是本研究的重要内容。本课题小组经过深入研究终于在加速蛋白质-糖接枝反应上采用微波辐射的方式进行接枝反应取得了突破<sup>[8-10]</sup>：在蛋白质-糖湿法接枝改性研究的基础上，通过微波辐射强化已取得了良好的结果，该法极大地提高了接枝反应的速度，而且经接枝改性产品的功能性如水溶性、乳化性、热稳定性等有很大的改善，并跟其它加热方式合成蛋白质-糖共价物的结果的报道基本一致<sup>[1-6]</sup>，该微波只是加速了SPI-糖接枝反应的进行，而跟其它类似反应在本质上均无区别。而本实验主要探讨微波合成的大豆蛋白-糖接枝物在理化性质方面的一些变化。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂、材料

大豆分离蛋白(SPI) 日本不二公司(粗蛋白92.0% GB5009.5-1985, 水分5.8%, GB5497-1985);  $\alpha$ -乳糖; 可溶性淀粉(SS); 透析袋(截留相对分子质量12kD); Sepharose CL-6B 琼脂糖凝胶; 凝胶色谱用标准蛋白; 赖氨酸、邻苯二甲醛(OPA)、十二烷基磺酸钠(SDS)、 $\beta$ -巯基乙醇、硼砂、甲醇、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾等均为分析纯。

### 1.2 仪器

NJL08-3型实验专用微波反应器 南京杰全微波设备有限公司制造; BSZ-100型自动部分收集器; 650-60型荧光分光光度计 日本日立公司; 氨基酸自动分析仪 日本东芝公司; 差示扫描分析仪 美国PE公司; 奥氏黏度计; 弗鲁克高剪切分散乳化机; 尤尼柯UV-2100分光光度计; 磁力加热搅拌器; LD2-2离心机。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 SPI溶液的制备

称取一定量的SPI, 加入磷酸缓冲液(pH7.8, 1/15mol/L)中, 均质1min, 磁力加热搅拌2h(30℃), 离心30min(2000×g)后所得上清液经滤纸过滤后于4℃冰箱保存备用, 凯氏定氮法(GB5009.5-1985)测定蛋白液的浓度(mg/ml)。

#### 1.3.2 SPI-糖接枝物的制备

将1.3.1中制备好的SPI液用相同的磷酸缓冲液稀释到1.0~2.0mg/ml, 加入糖, 依据文献[8~10], 采用微波反应器回流式接枝反应, 功率500W, 温度控制在90±1℃。反应结束后对于不同的糖类其处理方法如下:

SPI-乳糖反应混合物: 取5ml反应混合物于冰箱-20℃保存备用, 其余反应混合物于蒸馏水中透析(4℃), 所得透析液进行冷冻干燥制成干粉。

SPI-SS反应混合物: 4℃保存过夜, 离心(2500×g)除去不溶物, 取上清液5ml于冰箱-20℃保存备用, 其

余反应混合物于蒸馏水中透析(4℃), 所得透析液进行冷冻干燥制成干粉。

#### 1.3.3 自由氨基测定

采用OPA法对蛋白中自由氨基进行测定, 参照文献[4~5]方法的基础上进行改进: 准确称取40mg的OPA溶解于1ml的甲醇中, 分别加入20%(W/W)的SDS 2.5ml, 0.1mol/L的硼砂25ml及100 $\mu$ l  $\beta$ -巯基乙醇, 最后用蒸馏水定容到50ml。空白液不加OPA。测定时, 各取空白液、OPA试剂4ml于试管中, 分别注入200 $\mu$ l样品液, 混匀后于35℃反应2min, 340nm下测其吸光值 $A_{340}$ , 二者之差 $\Delta A_{340}$ 为自由氨基的净吸光值。以赖氨酸作出标准曲线, 根据 $\Delta A_{340}$ 计算样品中自由氨基的含量C。

#### 1.3.4 接枝度(degree of graft, DG)的计算

$$DG = (C_0 - C_t) / C_0 \times 100\%$$

式中,  $C_0$ 为未反应时蛋白质自由氨基总量;  $C_t$ 为反应t时刻蛋白质自由氨基的含量。

#### 1.3.5 SPI-糖接枝物的Sepharose CL-6B柱层析及其纯化

称取一定量1.3.2样品, 溶于0.1mol/L pH7.6的Tris-HCl缓冲液中(含0.4mol/L NaCl), 浓度为20mg/ml, 搅拌使其溶解, 然后离心(2500×g)10min除去不溶物, 取上清液2ml上柱层析(柱长, 90cm; 柱直径, 1cm; 洗脱流速, 2.8~3ml/10min)。洗脱液为0.1mol/L pH7.6的Tris-HCl缓冲液(含0.4mol/L NaCl), 280nm及420nm处检测。

根据大分子蓝色葡聚糖2000的洗脱体积测定凝胶柱的外水体积 $V_o$ , 根据铬酸钾的洗脱体积测定凝胶柱的内水体积 $V_i$ ; 分配系数 $K_d = (V_e - V_o) / V_i$ ; 以标准蛋白质相对分子质量的对数为纵坐标,  $K_d$ 为横坐标作标准蛋白相对分子质量对数图, 计算蛋白质的相对分子质量。

收集280nm与420nm均吸收溶液于蒸馏水中透析(4℃), 所得透析液进行冷冻干燥制成干粉, 即为纯化的接枝物样品。

#### 1.3.6 总糖量的测定

蒽酮比色法<sup>[11]</sup>。

#### 1.3.7 氨基酸分析

参考文献[12]的方法, 将样品分别置于消解管中, 加入6mol/L的HCl溶液, 在110℃下密封水解24h, 冷却后定容, 过滤, 蒸干, 再加入0.02mol/L的HCl溶液在真空中放置30min, 上氨基酸自动分析仪测定除色氨酸以外的其它氨基酸的含量。

#### 1.3.8 黏度的测定

参考文献[13]的方法利用奥氏黏度计测量黏度,

25℃恒温水浴,液体流过黏度计毛细管的时间通过精度为0.01s的电子数字秒表计时。每个数据点至少进行四次重复实验,每两次试验的差值不大于0.05s,取四次测量的平均值作为最终实验结果。

以样品溶液浓度C为横坐标,  $1/C \times \ln(t/t_0)$  及  $(t/t_0 - 1)/C$  各为纵坐标作图,外推至C=0时,求出特性粘度 $[\eta]$ ,  $t$ ,  $t_0$  分别为样品溶液及水流经毛细管两端刻度的时间。

### 1.3.9 差示扫描量热(DSC)分析

参考文献[12]的方法将样品用差示扫描量热仪分别测定其变性温度,扫描速率:5℃/min,扫描范围:30~100℃。

### 1.3.10 荧光光谱分析

参考文献[12]方法,称取一定量样品,用重蒸水溶解,使蛋白浓度为1mg/ml,取200μl样品溶液于2.3ml硼酸盐缓冲液中(pH8.5, 0.2mol/L),使用HATACHI 650-60荧光分光光度计分别在347nm(激发波长)进行发射波长扫描。

### 1.4 实验设计与统计分析

所有实验均进行平行实验,而且重复3~5次;样品的测定均重复3~4次,结果取平均值;应用统计软件SAS(V8.1)并对结果进行方差分析( $p < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

微波辐射SPI-糖进行接枝反应到一定程度后(本研究中,SPI与乳糖、可溶性淀粉的接枝度DG分别为35.8、29.8),反应混合物由SPI、糖、SPI-糖接枝物、盐及少量副产物组成。为了得到SPI-糖接枝物,需对反应混合物进行一定程度的处理,以除去非接枝物。

对于SPI-乳糖反应物,可通过透析的方法将乳糖,盐及小分子的副产物除去。

而在SPI-SS反应物中,SS为多糖,不能通过透析的方法将未反应的SS除去。根据SS在冷水中不溶解的特点,可将反应混合物置于4℃中放置一定时间后,使其从溶液中析出,然后通过离心的方法将其除去。最后,通过透析将盐及小分子的副产物除去。

### 2.1 SPI-糖接枝物的Sephacrose CL-6B分析及其纯化

由于糖分子的共价接入,SPI分子发生了变化,包括各组成的相对分子质量的变化。研究蛋白质相对分子质量方法通常有电泳、柱层析及液相色谱等,本研究中利用Sephacrose CL-6B凝胶柱层析与HPLC并借助于相关软件对接枝物进行相对分子质量的分析。

为了进一步研究SPI-糖接枝物各组分,我们对经过初步处理的样品进行了Sephacrose CL-6B柱层析,结果如图1所示。

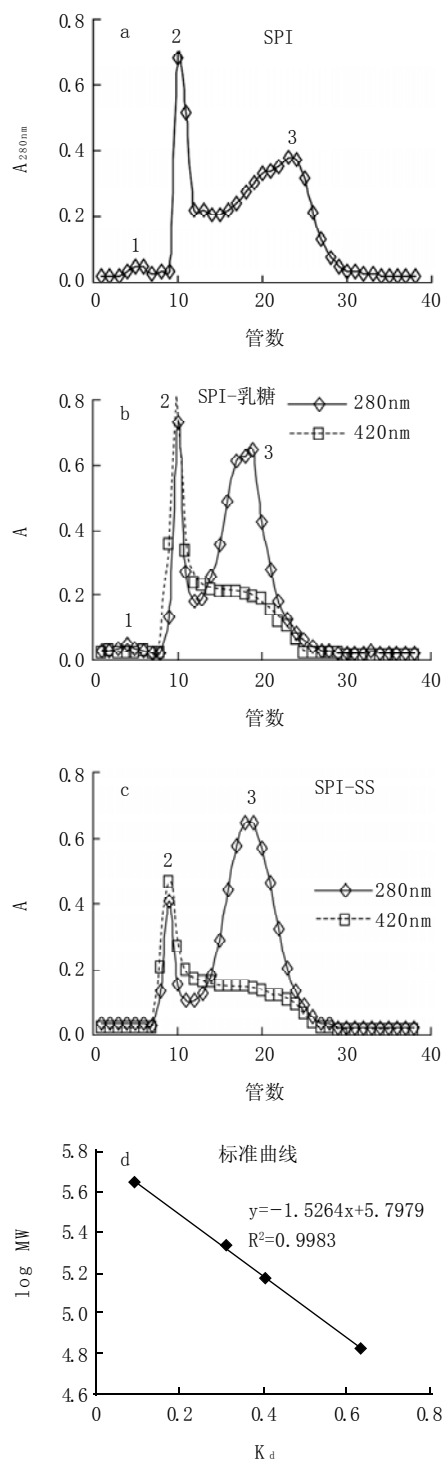


图1 SPI及其接枝物Sephacrose CL-6B柱层析图及标准蛋白相对分子质量对数(logMW)与分配系数( $K_d$ )的关系图  
Fig.1 Chromatography of SPI and grafts in sephacrose CL-6B, and relationship between logMW and  $K_d$  of standard proteins on Sepharose CL-6B

对收集液280nm吸收检验表明:SPI及其接枝物均呈现两个强的吸收峰;但是,对于SPI与SPI-乳糖接枝物还在洗脱体积为12~15ml(外水体积为12ml)也出现一弱

的吸收峰(图1),而SPI-SS则未出现;另外,SPI-糖接枝物柱层图的峰形较为对称;这说明SPI接枝后其分子的空间结构发生了一定的变化,而且在溶液中其分子更加分散。对此,通过标准蛋白相对分子质量对数与分配系数( $K_d$ )关系图(图1),将柱层析图所得各组分的相对分子质量进行估算,结果如表1所示。对于SPI及SPI-乳糖接枝物,组分1相对分子质量在440kD以上,且洗脱体积在外水体积之外,可推测为少量蛋白质的聚集体,而SPI-SS接枝物未监测到组分1,说明在溶液状态下,其分子较为分散开来;比较各样品组分2、3的相对分子质量可看出,SPI及其乳糖接枝物的变化不大,而SPI-SS接枝物的相对分子质量有一定程度的提高,由此可见,多糖SS的介入,使得蛋白质的相对分子质量相对提高;而且,与SPI-乳糖接枝物相比,SPI引入分子体积较大SS,降低了蛋白质分子的聚积,因此,在SPI-SS接枝物柱层析图(图1)上未观察到组分1。

表1 SPI及其接枝物柱层析各组分的相对分子质量计算结果  
Table 1 Molecular weights of SPI and grafts components separated by Sepharose CL-6B

项目	组分1(kD)	组分2(kD)	组分3(kD)
SPI	> 440	324.9	80.0~110.1
SPI-乳糖接枝物	> 440	349.0	80.0~120.8
SPI-SS接枝物	—	362.6	121.0~151.0

为了收集纯度较高的SPI-糖接枝物,分别对收集液在420nm进行检测(图1)。从图中可看出,组分2、3均呈现不同程度的吸收,而组分2处的吸收较强,可推测为组分2为DG较高的组分。但是,为了系统研究接枝物,我们对组分2、3在两波长处均有吸收的洗脱液进行了收集,并进行脱盐等处理,制备成纯度更高的样品。另外,也收集了SPI于280nm处有吸收的洗脱液并制备成样品作为对比。

## 2.2 SPI-糖接枝物理化性质

SPI与糖进行接枝反应后,其理化性质会发现一些变化,为了了解接枝物的理化性质,我们对接枝物的总糖含量、氨基酸、粘度、热变性温度、荧光等进行了分析。

### 2.2.1 总糖及氨基酸分析

本研究中,采用蒽酮法测定经过柱层析纯化所获得的蛋白样品的总糖含量,结果如图2所示。SPI与糖进行接枝反应后,其接枝物中总糖的含量明显提高。通过氨基酸分析,并对其进行相对含量计算,发现氨基酸中有赖氨酸、精氨酸发生明显的变化(表2,其它未变化氨基酸的数据未列出)。这是由于赖氨酸与精氨酸的侧链上存在自由氨基,所以可参与SPI与糖的接枝反应,故其相对含量减少。

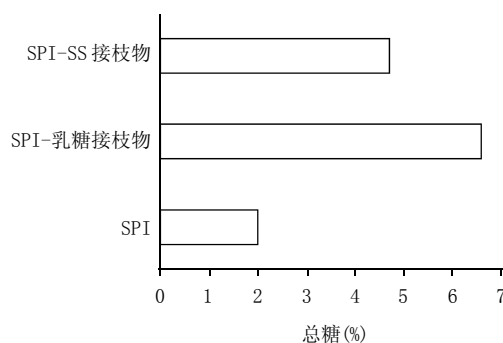


图2 SPI及其接枝物总糖含量

Fig.2 Total saccharide content of SPI and grafts

表2 SPI及其接枝物氨基酸相对含量

Table 2 Relative content of the amino acids of SPI and grafts

氨基酸	SPI (%)	SPI-乳糖 (%)	SPI-SS (%)
Arg	7.49	5.80	5.82
Lys	6.33	3.45	4.19

结合氨基酸分析的结果,我们若假定在SPI-糖接枝反应中,只有赖氨酸与精氨酸侧链的自由氨基发生接枝反应,且一个糖分子只与一个自由氨基反应,那么可估算出产物的接枝度与含糖量。计算如下:

$$DG_{\text{估计}}(\%) = [1 - (L+A)_{\text{Graft}} / (L+A)_{\text{SPI}}] \times 100$$

$$\text{总糖量}(\%) = [\Delta(L+A) \times M + 2.0] / [100 + \Delta(L+A) \times M] \times 100$$

式中,  $\Delta(L+A) = (L+A)_{\text{SPI}} - (L+A)_{\text{Graft}}$ , L、A为赖氨酸与精氨酸的摩尔数,其值为其在氨基酸分析中相对含量的百分数与相对分子质量之比;M为糖的相对分子质量(对于SS,以平均相对分子质量20kD计),2.0为SPI中总糖含量百分数。所得结果如表3所示,从表中可看出,无论哪一种接枝物,DG的理论值较实测值偏小,这有可能在SPI分子中,除了赖氨酸与精氨酸侧链上的自由氨基参与反应外,蛋白质分子N末端的自由氨基也参与了反应。

表3 理论计算与实际测定计算的DG与总糖含量  
Table 3 DG and total-saccharide content of theoretical computation and their determining values

项目	SPI-乳糖接枝物		SPI-SS接枝物	
	DG (%)	总糖 (%)	DG (%)	总糖 (%)
理论计算	33.2	10.7	27.1	>> 4.7
实测计算	35.8	6.6	29.8	4.7

另外,总糖含量理论值也较实测值大,这要从两个方面来解释:在用蒽酮法测定总糖量时,是利用浓硫酸将糖分子水解为单个葡萄糖分子进行的显色反应,但是接枝于蛋白质分子上糖分子很可能在酸消解时只能得到(n-1)个葡萄糖分子,导致测定结果误差的产生,尤其是对于乳糖分子。另外从接枝反应的机理上解释,一个糖分子可能与多个自由氨基反应,比如SS,

一个分子可能含有多个还原末端,可同时与多个自由氨基反应。

### 2.2.2 黏度分析

特性黏度反映了在溶液无限稀释的情况下,每个高聚物分子彼此相隔极远,其相互无干扰可忽略不计。这时,溶液所呈现的粘度主要是反映了高聚物分子与溶剂分子间的内摩擦。

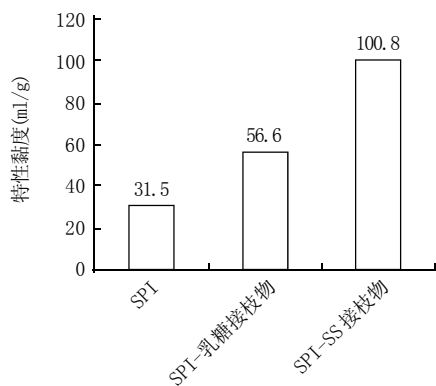


图3 SPI及其接枝物的特性黏度  
Fig.3 Intrinsic viscosity of SPI and grafts

由所测得的结果可看出(图3),SPI经过接枝改性后,其接枝物的特性黏度出现不同程度的增加,这说明SPI-糖接枝物在溶液里分子较SPI有更大程度的伸展,这样与溶剂分子间的内摩擦加大,而由于多糖的引入,在空间上更加改变了蛋白质的空间结构,因此,SPI-SS接枝物特性黏度较SPI-乳糖接枝物大得多。

### 2.2.3 热变性温度-DSC分析

差示扫描热量法(DSC)自20世纪60年代以来已广泛用于蛋白质热变性研究。由于蛋白质加热时,蛋白质内的氢键断裂,从而导致蛋白质分子的展开,分子展开过程中需要吸收能量,我们称之为变性热,蛋白质的热分析就是通过加热破坏蛋白质的二级、三级和四级结构,测量变性过程中的能量变化情况。SPI及其接枝物变性温度的测定结果如图4所示:SPI及其与乳糖、SS接枝物的变性峰值温度分别为85、75、70℃,三者变性温度相差很大,这说明三者结构与组成上有较大差异。

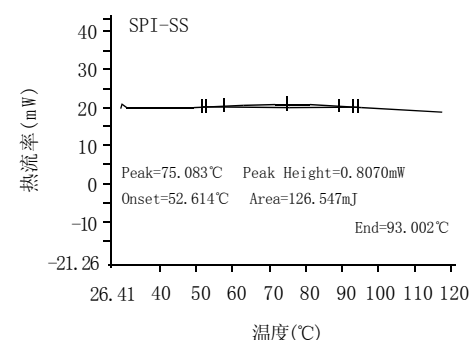
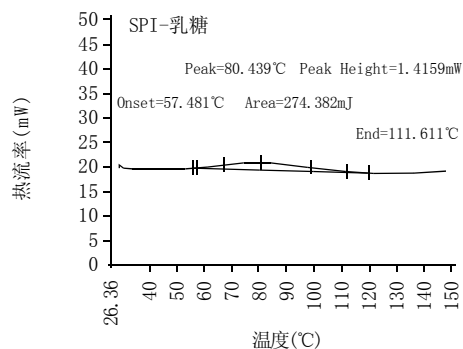
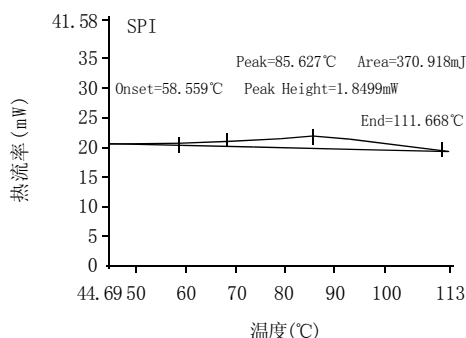


图4 SPI及其接枝物DSC分析图谱  
Fig.4 DSC analysis of SPI and grafts

对于生物高分子聚合物,非共价键如氢键与疏水相互作用,在稳定蛋白质分子结构稳定性方面起着主要的作用,它们也许是反向键,对热变性温度起着主要决定作用。大豆蛋白热变性温度与其分子的二级结构有关,一般由非共价键来决定<sup>[14]</sup>。由此,可推测糖分子的引入,破坏了SPI分子中非共价键,导致热变性温度降低。

### 2.2.4 荧光光谱分析

研究发现<sup>[15]</sup>美拉德反应产生的荧光物质典型的光谱特征为激发波长为340~370nm,发射波长为420~440nm。由于SPI-糖接枝反应以美拉德反应为基础,因此我们对此进行了研究,发现当激发波长为415nm时,所得荧光光谱如图5所示:SPI则在450nm处有最大荧光强度,而接枝物均在430nm处有最大荧光强度,符合美拉德反应产物的荧光特征,这也说明SPI-糖接枝物具有荧光特性。但是从图5可看出,SPI-乳糖接枝物在430nm外的荧光强度要高于SPI-SS接枝物,这可能与反应的程度有关。

一般认为,荧光物质的形成是零级反应<sup>[16]</sup>。许多研究者计算出理论方程预测荧光聚集程度。此理论方程作为时间函数,而一些变量及中间反应的速率常数未知,故不能求出方程的解<sup>[16]</sup>。由此,荧光物质还没有完全定性,荧光性的研究也只能停留在摩尔的基础上。研究还发现<sup>[17]</sup>,颜色物质与荧光物质并非完全相同,荧光基团是类黑素的前体物。通常,对产生褐变与荧光的引发阶段研究发现后者的引发阶段较短<sup>[16]</sup>。此阶段,

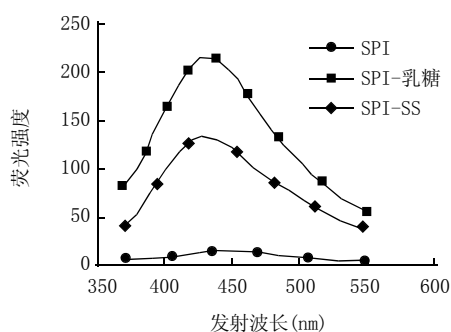


图5 SPI及其接枝物荧光光谱

Fig.5 Fluorescence spectra of SPI and grafts

大量的无色中间体形成。随着加热时间的进行, 荧光物质的产生、增加、平衡取决于反应的条件(pH、 $a_w$ 、温度及反应物的种类)<sup>[18]</sup>。

### 3 结论

微波合成的大豆蛋白-糖接枝物是一类复杂的高分子化合物, 此研究中, 依据 Sepharose CL-6B 柱层析图, 与 SPI 相比, SPI-乳糖接枝物相对分子质量变化不大, SPI-SS 接枝物未监测到 > 440kD 的组分 1。而且, 利用 DSC、荧光等手段分析了接枝物理化性质的一些变化: SPI 与糖经接枝反应后, 其接枝物中总糖的含量明显提高, 赖氨酸、精氨酸发生明显的变化, 特性黏度出现不同程度的增加, 而热变性峰值温度则有所降低。另外, 通过荧光分析, 接枝物符合美拉德反应产物的荧光特征,

当然, 由于蛋白质-糖接枝物是一类新型的高分子化合物, 其研究还需要进一步从其它方面如反应机理、分子结构与功能等方面加以深入研究。

### 参考文献:

- [1] DIFTIS N, DIOSSEOGLU V. Improvement of emulsifying properties of soybean protein isolate by conjugation with carboxymethyl cellulose [J]. Food Chemistry, 2003, 81: 1-6.
- [2] KATO A, SASAKI Y, FURUTA R. Functional protein-polysaccharide conjugate prepared by controlled dry-heating of ovalbumin-dextran mixtures[J]. Agric Biol Chem, 1990, 54(1): 107-112.
- [3] NAKAMURA S, KOBAYASHI K, KATO A. Role of charge of lysozyme in the excellent emulsifying properties of maillard-type lysozyme-polysaccharide conjugate[J]. J Agric Food Chem, 1994, 42: 2688-2691.
- [4] CHEVALIER F, HOBERT J M, POPINEAU Y, et al. Improvement of functional properties of  $\beta$ -lactoglobulin glycosylated through the maillard reaction is related to the nature of the sugar[J]. International Dairy Journal, 2001(11): 145-152.
- [5] BRANDS C M J, VAN BOEKEL M A J S. Kinetic modelling of reactions in heated disaccharide-casein systems[J]. Food Chemistry, 2003, 83: 13-26.
- [6] JING H, KITTIS D D. Chemical and biochemical properties of casein-sugar maillard reaction products[J]. Food and Chemical Toxicology, 2002, 40: 1007-1015.
- [7] MARTINS S I F S, JONGEN W M F, VAN BOEKEL M A J S. A review of maillard reaction in food and implications to kinetic modelling [J]. Trends in Food Science and Technology, 2001(11): 364-373.
- [8] GUAN Jun-jun, QIU Ai-yong, LIU Xiao-ya, et al. Microwave improvement of soy protein isolate-saccharide graft reactions[J]. Food Chemistry, 2006, 97(4): 577-585.
- [9] 管军军, 裴爱泳, 刘晓亚, 等. 加热方式对大豆分离蛋白-糖接枝反应的影响[J]. 中国油脂, 2005, 30(6): 53-56.
- [10] 管军军, 裴爱泳, 刘晓亚, 等. 微波辐射大豆分离蛋白-糖接枝反应条件的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2005, 24(5): 16-20.
- [11] 宁正祥. 食品成分分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998.
- [12] GORINSTEIN S, DELGADO LICON E, PAWELZIK E, et al. Characterization of soluble amaranth and soybean proteins based on fluorescence, hydrophobicity, electrophoresis, amino acid analysis, circular dichroism, and differential scanning calorimetry measurements[J]. J Agric Food Chem, 2001, 49: 5595-5601.
- [13] 盛以虞. 物理化学实验指导[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1993.
- [14] MIZUNO A, MITSUIKI M, MOTOKI M, et al. Relationship between the glass transition of soy protein and molecular structure[J]. J Agric Food Chem, 2000, 48: 3292-3297.
- [15] OBAYASHI H, NAKANO K, SHIGETA H, et al. Formation of crossline as a fluorescent advanced glycation end product *in vitro* and *in vivo*[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1996, 226: 37-41.
- [16] WARMBIER H C, SCHNICKELS R A, LABUZA T P. Nonenzymatic browning kinetics in an intermediate moisture model system: effect of glycose to lysine ratio[J]. J Food Sci, 1976, 41: 981-983.
- [17] SINGH R K, LUND D B, BUELOW F H. Storage stability of intermediate moisture apples: kinetics of quality change[J]. J Food Sci, 1983, 48: 939-944.
- [18] HUYGHUES-DESPOINTES A, YAYLAYAN V A. Kinetic analysis of formation and degradation of 1-morpholino-1-deoxy-D-fructose[J]. J Agric Food Chem, 1996, 44: 1464-1469.